第33卷 第2期　　昆 虫 学 报　　Vol. 33, No. 2
1990 年 5 月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　May, 1990

氚标记睾丸酮在家蚕体内的吸收和分布*

何首林　万家集**　向仲怀
(西南农业大学，重庆)
(**四川省农业科学院蚕桑研究所，南充)

摘要　在家蚕 *Bombyx mori* L. 的五龄起蚕期，添食氚标记的雄性激素丙酸睾丸酮 (代号 ^{3}H-TP)，用液体闪烁谱仪探查五龄期蚕体对 ^{3}H-TP 的吸收与排泄、贮存与分布及雌雄间的差异。结果证明：蚕体对 ^{3}H-TP 的排出率在添食后 24 小时达峰值，累计吸收率雄性为 85.81%、雌性为 68%，雌雄间有明显差异。蚕体内各组织器官对 ^{3}H-TP 的吸收也有显著不同，中肠、血液在添食后 2 小时、脂肪体在 72 小时、体壁在 48 小时，其放射活性为最大值，雌雄间均无明显差异；生殖腺则在添食后 168 小时达峰值，且雄性显著高于雌性；丝腺中相对含量比较稳定，雌雄之间无较大差异。^{3}H-TP 在蚕体各组织器官中的贮存与分布表现为：五龄初期 (添食后 2 小时) 以中肠和血液最多，共达 85% 左右；五龄中期 (添食后 96 小时) 以性器官最高 (28% 左右)；五龄末期 (添食后 192 小时) 性器官中高达 34.58%，且雄性 (40.4%) 显著高于雌性 (28.74%)。上述研究结果说明，在家蚕五龄起蚕期添食 ^{3}H-TP，能被蚕儿多量吸收和贮存在体内，其中尤以生殖器官的相对含量最多，雌雄间亦有明显差异。由此表明，雄性激素可能对家蚕具有某种生理活性。

关键词　家蚕　氚标记丙酸睾丸酮

吉田 (1942)、郭郛 (1964)、Naisse (1966) 对昆虫性激素的研究均有报道。近年，长岛荣一和向仲怀 (1982、1983、1984) 用放射免疫法，判明家蚕 *Bombyx mori* L. 体内也存在高等动物性激素类似物，但生理功能不明。另一方面，蚕业上有将高等动物性激素作增丝、增卵的应用报道(万家集等，1980；黄自然，1981；顾国桢等，1984；李建文，1986)，也有将家蚕雄蛾性激素浸提物用于高等动物的报道。因此，研究性激素在蚕体内的代谢动态及对蚕体的生理活性，在理论和实践上都具有重要意义。为此，笔者用示踪原子法研究了丙酸睾丸酮在蚕体内吸收、排泄及其在主要组织器官中的积累、分布以及雌雄间的差异。现将结果整理、报告于后。

材 料 与 方 法

材料　供试蚕品种为蚕桑系保育的普通班限性系统，中 16 × 日 23。标记物为 [(1、2、6、7)-^{3}H]-丙酸睾丸酮(代号：^{3}H-TP)，由中国科学院上海原子核研究所提供，放化纯度 >95%，放化性比活度为 7.6 万毫居里/毫克分子，比放射性浓度 (5% 乙醇、甲苯液) 为 1 毫居里/毫升。

方法　五龄起蚕时，分别选取雌雄健蚕各 100 头饲养，按放射性强度 10 微居里/头蚕

本文于 1987 年 7 月收到。
* 为四川省科委应用基础研究资助课题。
本试验得到四川省蚕桑研究所熊季光、张文明研究员的帮助，蒙西南农业大学李隆术教授、中国科学院动物研究所郭郛研究员审阅原稿，在此一并致谢。

计，取 10 微升 ³H-TP 原液涂叶定量添食。选取食尽药叶者饲养，于添食后 2、6、15、24、48、72、96、120、144、168、192 小时，取雌雄蚕各 3 头，逐头采集血液、中肠、丝腺、马氏管、睾丸、卵巢、脂肪体、体壁等样品，另逐日收集蚕粪。各样品分别置于玻璃指形管内，加入适量高氯酸和过氧化氢，置管于 70—80℃ 的水浴锅上消化。冷却后倒入测量瓶中，加入 0.5% 的 PBD 二甲苯闪烁液 8 毫升和少许 Tritonx-100TM 乳化剂，待清彻透明后，静置 2 小时，上机作放射性测量。

测量仪用 BECKMAN LS-9800 型液体闪烁谱仪。测得的放射性脉冲数 (cpm) 包括 ³H-TP、含氚的生物降解产物和脱落的氚原子。蚕粪测量按每天每头蚕排粪总量统计。各组织器官的测量值统一在 100 毫克鲜重水平上。用以比较分析 ³H-TP 在蚕体内的代谢动态和各组织器官中的分布规律。

结　　果

一、蚕体对 ³H-TP 的吸收和排泄

蚕粪测量结果(见图 1)表明：放射性 ³H-TP 在食下后 24 小时经蚕粪排泄率达到高峰值 (雌性 18.91%、雄性 9.03%)，48 小时排泄率大幅度下降 (雌3.12%、雄 1.05%)，72 小时略有回升，但幅度甚小(雌 4.17%、雄 1.81%)，其后继续下降，至熟蚕时排泄率仅为千分之几 (雌 0.7%、雄 0.28%)。累计五龄全期排泄率：雌蚕为 31.96%、雄蚕为 14.19%。

图 1 表明：家蚕对 ³H-TP 的吸收运转快 (24 小时内急剧吸收和运转)、吸收量大(雄雌平均吸收率为 76.93%)、体内贮存时间长 (192 小时后各组织器官仍有较高放射活性)。性别间对 ³H-TP 的吸收率存在差异，雄蚕 (85.81%) 大于雌蚕 (68.04%)。

二、³H-TP 在蚕体各组织器官中的代谢动态

1. 中肠：³H-TP 在中肠里的代谢动态如图 2 所示。放射性脉冲率最高是在食下后 2 小时 (雌 46.34%、雄 38.90%)，6 小时降值约为一半 (雌 28.1%、雄 19.6%)，至 72 小

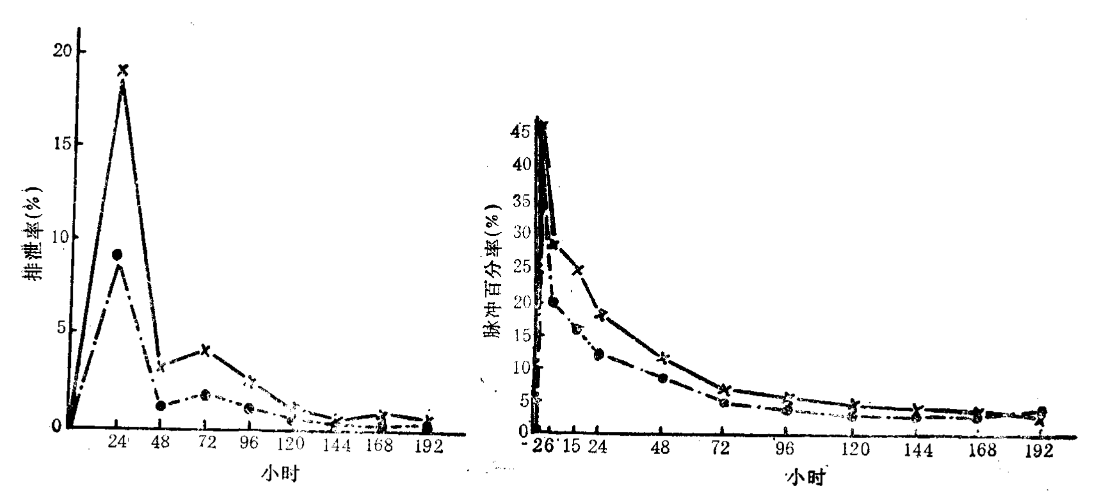


图 1　³H-睾丸酮经蚕粪排泄动态　　　　图 2　中肠内 ³H-睾丸酮代谢动态

●—·—● 雄性　×—× 雌性

时雌性约 6.52%、雄性约 4.6%，之后继续缓慢下降，熟蚕时雌雄相近(雌 3.65%、雄 3.84%)。结果表明中肠对 ^{3}H-TP 的吸收高峰期在 2 小时，且 72 小时前表现为大量转运。

2. 血液(图 3)：血液中以食下后 2 小时的脉冲百分率最高(雌 40.12%、雄 44.58%)，之后一直滑降至见熟(雌 9.6%、雄 8.69%)，雌雄两曲线相似。但五龄初和龄末的吸贮比是雌为 1:0.24、雄为 1:0.19。雌蚕的运转率为 76%，雄的为 81%。表明雄蚕血液对 ^{3}H-TP 的吸收运转率高于雌蚕。

3. 脂肪体(图 4)：脂肪体里放射活性 6 小时前直线上升，72 小时达峰值(雌20.47%、雄 21.25%)。之后缓慢降低至熟蚕(雌 12.52%、雄 14.82%)。表明 72 小时前主要为吸收贮存，之后主要为转运。

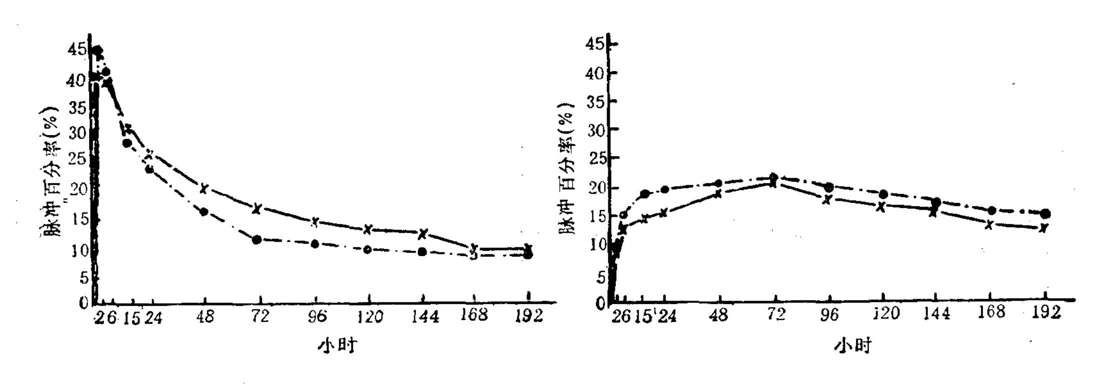


图 3　血液里 ^{3}H-睾丸酮代谢动态　　图 4　脂肪里 ^{3}H-睾丸酮代谢动态

●—·—● 雄性　×—× 雌性

4. 体壁(图 5)：体壁内放射活性 48 小时出现峰值(雌 9.55%、雄 10.53%)，而后平缓移至熟蚕(雌 7.32%、雄 8.46%)，表明 48 小时前主要为吸收，之后为贮存转运。

5. 睾丸和卵巢(图 6)：性器官的吸收脉冲率呈持续上升，至 168 小时达峰值(卵巢 30.37%、睾丸 41.91%)，见熟时略有下降(卵巢 28.74%、睾丸 40.41%)。两曲线表明：家蚕雌雄性器官对外源雄性激素均易于吸收，但五龄后期睾丸的吸贮率皆高于卵巢 11% 左右，说明雄性器官对外源雄性激素具有特殊的吸收和贮存力，即睾丸可能与雄性激素有密切关系。另方面，卵巢对外源雄性激素的吸收也维持在较高水平上，说明雄性激素对雌性卵巢也有很大的亲和力。

6. 马氏管(图 7)：120 小时前马氏管中放射活性皆为持续上升，雄性此时达峰值(21.48%)，144 小时均下降(雌 27.45%、雄 17.53%)之后又回升，熟蚕时，雌蚕达峰值(33.07%)，而此时雄蚕则仅有 19.39%。表明马氏管对 ^{3}H-TP 有很强的吸收运转能力，且雌雄间有明显差异。

7. 丝腺(图 8)：24 小时前丝腺里放射活性表现为直线上升(雌 4.79%、雄 5.19%)，其后稳中略升，120 小时为峰值(雌 5.81%、雄 5.85%)，熟蚕时又下降(雌 4.9%、雄 4.4%)。两者的吸收贮存量相似，相对含量变化不显著。但丝腺在五龄期是急剧增长的时期，其相对含量的稳定，表明绝对贮量的增长是很大的。

三、^{3}H-TP 在蚕体组织器官中的贮存和分布

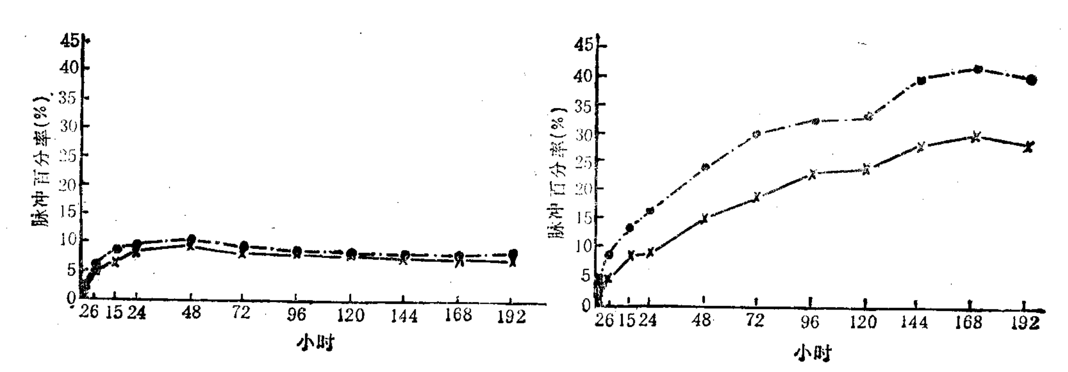


图 5 体壁里 ^{3}H-睾丸酮代谢动态

图 6 睾丸和卵巢里 ^{3}H-睾丸酮代谢动态

●—·—● 雄性 ×—× 雌性

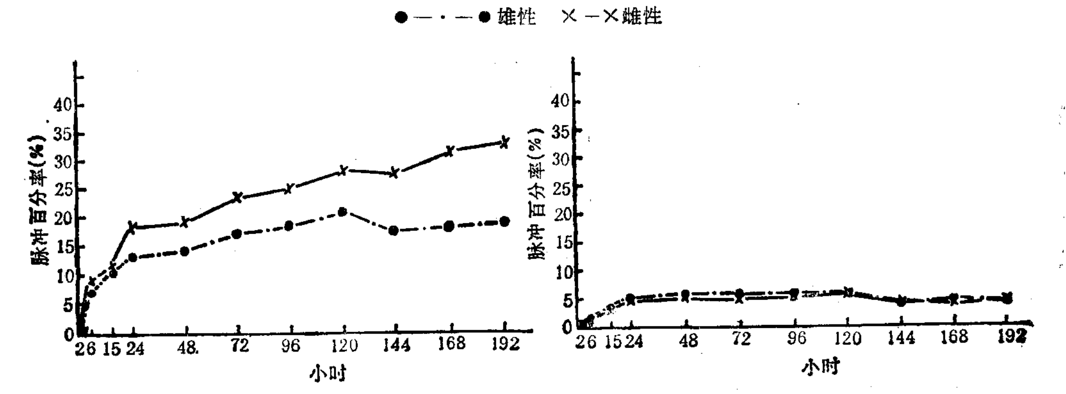


图 7 马氏管里 ^{3}H-睾丸酮代谢动态

图 8 丝腺里 ^{3}H-睾丸酮代谢动态

●—·—● 雄性 ×—× 雌性

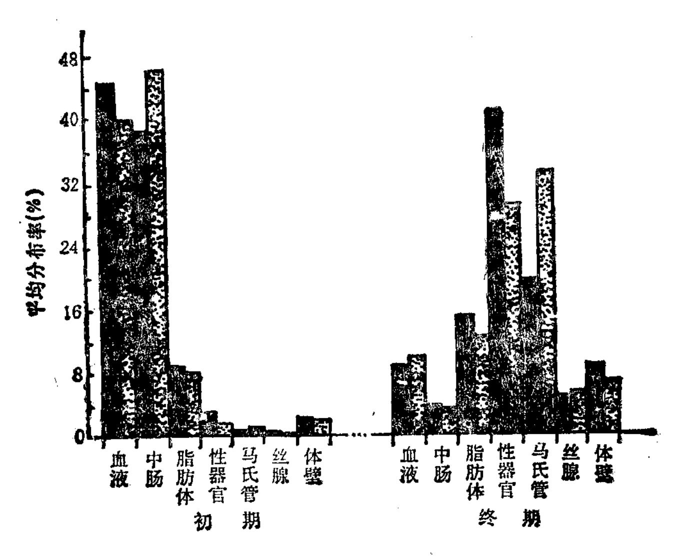
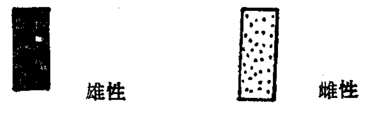


图 9 初期、终期 ^{3}H-睾丸酮在各组织器官中的分布



综合分析添食初、中、后期的测试结果(图 9)：^{3}H-TP 进入蚕体内 2 小时，首先被中肠和血液吸收。雌雄平均两者共占 84.97%。至中期(96 小时)，中肠、血液两性平均二者仅占 17.33%。而性器官、马氏管、脂肪体、体壁雌雄平均四者共占 77.12%。丝腺雌雄平均仅占 5.55%。到 192 小时熟蚕时，各组织器官的相对分布量为性器官：卵巢 28.74%、睾丸 40.41%，马氏管：雌 33.07%、雄 19.39%，脂肪体：雌 12.52%、雄 14.82%；体壁：雌 7.32%、雄 8.46%；血液：雌 9.61%、雄 8.68%；中肠：雌 3.65%、雄 3.85%；丝腺：雌 4.9%、雄 4.4%。

根据上述吸收分布动态分析，处理后 2 小时是中肠和血液对 ^{3}H-TP 的吸收高峰，随即转运至各组织器官。中期到后期(96—192 小时)，中肠和血液内又由 17% 降至 13%，表明了此两器官的吸收转运时期和速度。脂肪体和体壁内的贮量由 27% 降至 21%，表明睾丸激素似乎能储存于脂肪体或体壁细胞内，或者被脂肪体等运转、加工(郭郛，1979)。马氏管和性器官的贮量由 50% 增至 61%，表明雄性激素与新陈代谢和性器官发育有密切关系，以致丝腺在急剧增长期的放射脉冲强度始终保持在 5% 左右。

讨　论

昆虫性决定及性分化历来是昆虫学中的重要课题。不论对于害虫防治，还是对于益虫利用，均具有极为重要的意义。八十年代以来，昆虫性分化研究再度兴盛，家蚕性激素的研究日趋增多。长岛等(1981)自蚕蛾触角、体节、性色、复眼、体液蛋白质、脂肪组织细胞形态及性状等的雌雄差异出发，提出蚕的第二性征的概念，即蚕的性决定是由性染色体直接支配，而与性别相关的性状表现，则可能受性激素的调节。其后，长岛、伴野(1981)，长岛、向仲怀等(1983)用放射免疫学方法证明蚕体液中有高等动物性激素类似物存在，并调查了从五龄起蚕至发蛾阶段的含量曲线。若尾等(1985)用 ^{3}H-睾丸酮注入蚕体，调查了在家蚕体内的分布，确认雌雄之间有明显的差别。上述研究结果，无疑支持“在家蚕体内有性激素存在”的观点。

本实验蚕对丙酸睾丸酮有很高的吸收能力，且雄性显著高于雌性(雄 85.81%、雌 68.04%)，与上述研究者结果一致。另一方面，从标记物质在各器官中的分布来看，添食后 2 小时，以中肠、血液中含量最高。96—120 小时，唯有性器官和马氏管的吸收率持续上升。丝腺的吸收率保持稳定，表明性激素与五龄后期的丝蛋白合成、生殖发育及急剧的生理代谢功能极为相关。熟蚕时又以生殖腺的相对含量最高，且雄显著高于雌，表明睾丸酮对雌雄蚕均可能具有一定的生理活性，此点需尚待进一步证实，但意味着：若能确认某种性激素参与蚕性别分化的调节过程，则可在生产上实施雄性化技术而获得大的增丝效果。

有关性激素在蚕业方面的应用，国内外曾作了大量报道。内藤(1974)用性激素作人工饲料添加剂；万家集等(1980)用性激素研制出增丝剂“蚕研 2 号”；黄自然(1981)记载：“日本专利项目认为在每百克家蚕人工饲料中加入 5—500 微克的甲基睾丸素养蚕，可以增产蚕丝 6%，若加入 10 毫克雌二醇或乙烯雌酚也有增丝作用”。还记载了华南农业大学与顺德县的试验：“添食 3-环戊烷雌三醇有延长龄期及增丝作用，用丙酸睾丸素添食或喷体于五龄后期的蚕儿，有促进早熟及增加雌蛾产卵量(6%)的效果”；尹万锴(1980)、齐

易祥（1982）均报告了促黄体酮的增卵效应；李建文（1986）报告了甲基睾丸酮的增丝应用效果；徐震等（1986）报告了绒毛膜促性腺激素对家蚕的增卵效应。同时，也有与上述结果不一的应用效果报告。

睾丸酮在脊椎动物中不仅可以促进性成熟、性活动，还可以增加 RNA 聚合酶和核蛋白体上氨基酰转移酶的活性以促进蛋白质的合成，还能增强糖酶解，以供给蛋白质合成所需能量。由此可见，探索性激素对蚕的生物活性，是十分重要的研究课题。

参 考 文 献

万家集等 1983 新型增丝剂——蚕研二号。农业科技通讯 (11): 30。

尹万锴 1980 "LRH" 激素家蚕添食试验初报。安徽«蚕桑科技» (1): 14—6。

齐易祥等 1982 促黄体素释放激素对家蚕原种的作用。安徽«蚕桑科技» (3): 41—4。

何首林等 1983 氚标记昆虫保幼激素类似物 738 在家蚕体内的吸收和排泄。昆虫学报 26(2): 121—8。

李建文 1986 甲基睾丸素在养蚕生产上的应用试验。江苏蚕业 (3): 30—1。

郭郛等 1979 昆虫的激素。第 182—218 页。科学出版社。

黄自然 1981 蜕皮激素在蚕业上的应用。第 117—120 页。科学出版社。

长岛荣一、向仲怀等 1983 カイコ体液中に存在するテストステロン样の免疫反応物。日本蚕丝学杂志 52(3): 243—4。

Hammock, B. D. & G. B. Quistad. 1976 The degradative metabolism of juvenoids by insects. In: The Juvenile Hormones, pp. 374—90. edited by Gilbert, L. I.

Noweck, J. B. Hammock, & L. I. Gilbert, 1976 The Binding protein as a modulator of juvenile hormone stability and uptake, In: The Juvenile Hormone, pp. 354—73. edited by Gilbert, L. I.

Whitmore, D. et al. 1972 Haemolymph lipoprotein transport of juvenile hormone. *J. Insect Physiol.* 18: 1153—67

THE ABSORPTION AND DISTRIBUTION OF TRITICATED TESTOSTERONE IN LARVAE OF *BOMBYX MORI*

HE SHOU-LIN WAN JIA-JI* XIANG ZHONG-HUAI

(Southwest Agricultural University, Chongqing)

(Sericultural Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Nanchong)*

The larvae of *Bombyx mori* in the fifth instar were fed with mulberry leaves smeared with triticated testerone propionate (^{3}H-TP) and the absorption, distribution and excretion of the androgen in the body of the larvae were studied with liquid scintillation of the tissues and faeces. The results showed that the excretion rate of the ingested ^{3}H-TP peaked at 24 hours after the start of feeding, with significant difference between the male (86.8%) and the female (68.0%) larvae. As expected, significant differences existed in the absorption of ^{3}H-TP by different tissues and organs after the larvae were fed, as the maximal radioactivity appeared at 2 hours after feeding in the mid-gut and haemolymph, at 72 hours in the fat body and at 48 hours in the integument, with no apparent difference between the two sexes. The maximal radioactivity in the reproductive systems appeared at 168 hours after feeding, with male's markedly higher than female's. However, the radioactivity in the silk glands was quite steady, without significant difference between the two sexes. The storage and distribution of ^{3}H-TP and its possible degraded products were found as follows: in the early fifth instar or at 2 hours after feeding, the bulk was in the mid-gut and haemolymph, totalled about 85% of the ingested dosage; in the middle fifth instar or at 96 hours after feeding, the bulk was in the reproductive system, about 28% of the dosage in the body; and in the late fifth instar or at 192 hours after feeding, the average radioactivity in the reproductive systems was found to be as high as 34.6% and the male larvae retained significantly larger amount (40.4%) than the female larvae (28.7%). The results showed that the ingested ^{3}H-TP in the larvae in the early fifth instar could be absorbed and accumulated to a great degree, with significant difference between the male and female larvae. Thus it seems justified to regard that the androgen has played an important role related to sex differentiation in the silkworm.

Key words *Bombyx mori*——triticated testosterone propionate